

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23916

研究課題名(和文) ROS1融合遺伝子陽性肺癌における根治的薬物療法の開発

研究課題名(英文) Development of curative treatment for non-small cell lung cancer harboring ROS1 fusion gene.

研究代表者

加藤 有加 (Kato, Yuka)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：50544904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：ROS1融合遺伝子陽性肺癌患者のクリゾチニブ(Ros1阻害剤)の投与前、投与後6カ月後の胸水から、それぞれ細胞株ABC-26(親株)、ABC-20(耐性株)を樹立した。MTT assay等よりABC-20がクリゾチニブ耐性であることを確認した(IC50; 0.767 μ M)。ROS1阻害剤のうちロルラチニブは、ABC-20及びABC-26ともに感受性が高く維持されていた(IC50; 0.008 μ M, 0.0002 μ M)。これらの結果より、耐性株であるABC-20を用いたXenograft modelでは、クリゾチニブによる腫瘍縮小効果は得られなかったがロルラチニブには強い腫瘍縮小効果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、第二世代ROS1阻害剤であるロルラチニブがクリゾチニブ耐性を克服し、強い腫瘍縮小効果を得ることが可能であることが示唆された。ROS1肺癌患者は、非喫煙で若年者に多く社会的にも重要な疾患群である。しかし、免疫チェックポイント阻害剤の効果も乏しいことが報告されており、治療方法が限定されていることから、治療戦略が非常に重要である。本研究結果から、初回治療に用いたクリゾチニブの効果が消失した後に、ロルラチニブを使用することでより強い腫瘍縮小効果が得られ、更には延命効果が期待されたことは社会的意義が非常に高いと考える。

研究成果の概要(英文)：The cell lines ABC-26 (parental line) and ABC-20 (resistant line) were established from pleural fluid of ROS1 fusion gene-positive lung cancer patients before and 6 months after crizotinib (ROS1 inhibitor) treatment, respectively. Both ABC-20 and ABC-26 remained sensitive to lorlatinib, a second-generation ROS1 inhibitor (IC50; 0.039 μ M), while ABC-20 was resistant to crizotinib (IC50; 0.767 μ M). (IC50; 0.008 μ M, 0.0002 μ M), and the results of Western Blotting showed similar results. This suggests that lorlatinib is an effective drug both before and after crizotinib resistance. Based on these results, we validated the results using the Xenograft model, and found that lorlatinib had a strong tumor-reducing effect, although crizotinib did not have a tumor-reducing effect in the model using the resistant ABC-20 strain.

研究分野：肺癌

キーワード：ROS1融合遺伝子 クリゾチニブ ロルラチニブ

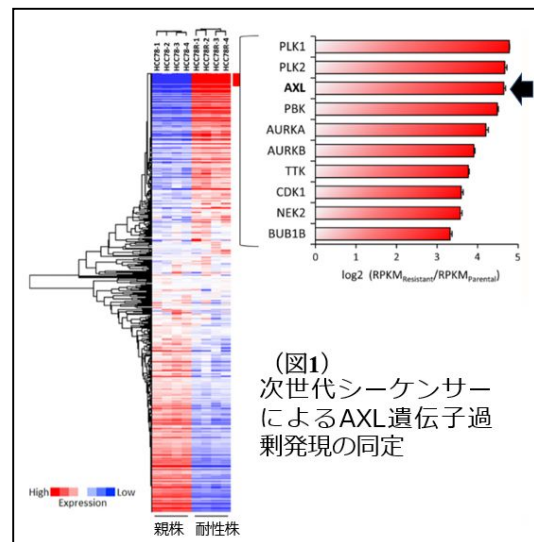
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

切除不能な進行・再発の NSCLC は難治性癌の代表であり、5 年生存率は約 5% の非常に予後不良な疾患の代表である。そのうち、*ROS1* 融合遺伝子は、非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者の 1-2% に認められ、約 2,000 人/年の新規発生があり、特に、社会的に重要な集団である非喫煙者の若年に多い。*ROS1* 融合遺伝子を有する NSCLC に対して、クリゾチニブは著明な有効性を示すが、1 年ほどで薬剤耐性を獲得し、再発を来す。再発後の治療として、殺細胞性抗癌剤、免疫療法、クリゾチニブ以外の *ROS1* 阻害剤が考慮されるが、クリゾチニブ以外の分子標的薬は未だ薬事承認されていない上に、免疫チェックポイント阻害剤の効果は乏しいことが報告されている。したがって、*ROS1* 融合遺伝子を有する NSCLC 患者に対する新しい治療戦略の考案は急務である。

2. 研究の目的

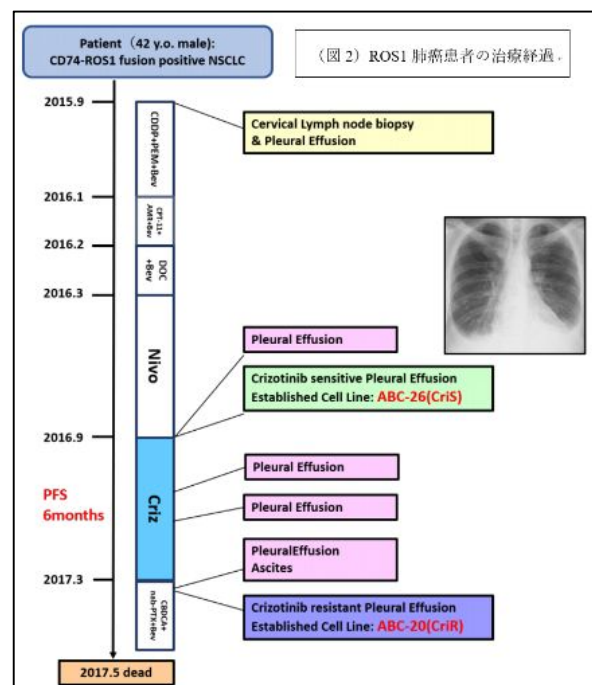
第一世代の *ROS1* 阻害剤であるクリゾチニブ耐性の原因は、現在までに、主として *ROS1* G2032R などの二次耐性変異の誘導、EGFR シグナル伝達経路の活性化が非臨床研究で報告され、開発が進んできた。我々は、*ROS1* 陽性肺癌細胞株を用いてクリゾチニブに耐性の細胞株 (クリゾチニブ耐性株 (HCC78R)) を作成し、次世代シーケンサー等にて、*ROS1* 陽性肺癌のクリゾチニブ耐性機序の原因として、EGFR のリン酸化及び EGFR の下流シグナルの活性化に加え、*AXL* の過剰発現が一因であることを報告した (Kato Y. Cancer Sci. 2018) (図 1)。



本研究は、患者由来の *ROS1* 陽性肺癌細胞株および組織を利用し、クリゾチニブへの耐性機序をさらに探索し、より深い寛解が得られる新規治療戦略を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) *ROS1* 肺癌患者のクリゾチニブ投与前および投与 6 カ月後 (増悪時) の胸水を採取し、それぞれ細胞株 ABC-26 (親株) ABC-20 (クリゾチニブ耐性株) を樹立した。
- (2) *ROS1* 肺癌患者の治療経過 (図 2) で複数の組織を採取。
- (3) MTT assay、Western Blotting、RT-PCR、pRTK-array 等を施行。
- (4) ABC-26 および ABC-20 を用い、Xenograft モデルを作成し、第一世代 *ROS1* 阻害剤 (クリゾチニブ) 第二世代 *ROS1* 阻害剤 (ロルラチニブ) を投与。

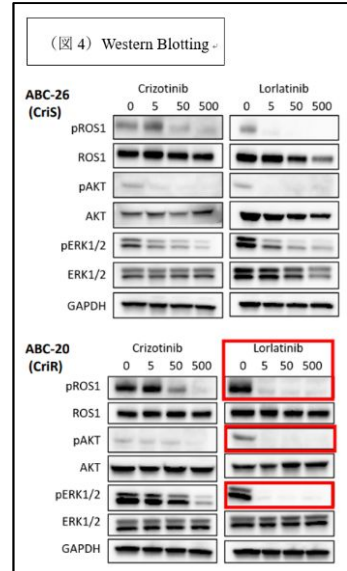
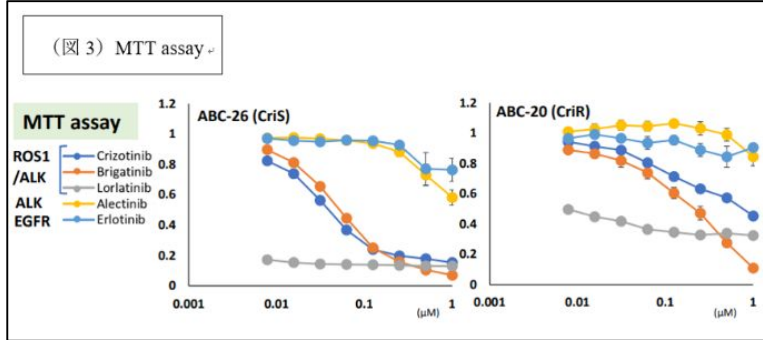


4. 研究成果

(1) MTT assay および Western Blotting

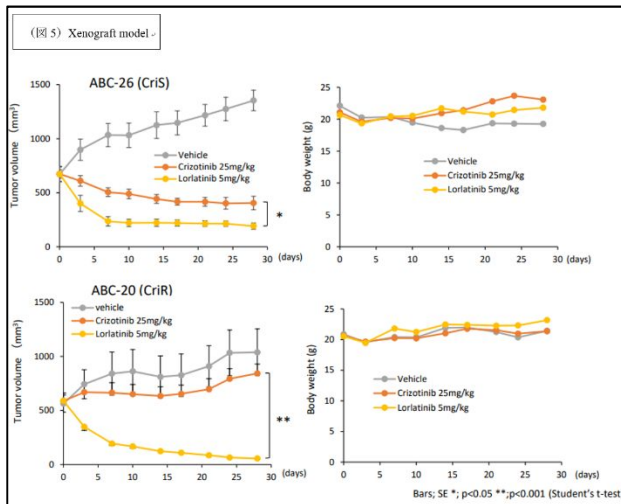
ABC-26 がクリゾチニブに対する感受性が高いことに対し (IC₅₀; 0.039 μ M) ABC-20 がクリゾチニブ耐性であることを確認した (IC₅₀; 0.767 μ M)。また、ROS1 阻害剤として、第二世代の薬剤であるロルラチニブについては、ABC-20 および ABC-26 とともに感受性が高く

維持されており (IC₅₀; 0.008 μ M, 0.0002 μ M) (図3)



Western Blotting の結果からも、ロルラチニブは ABC-26 および ABC-20 の ROS1 下流のリン酸化を抑制していることが明らかとなった (図4)。したがって、ロルラチニブは、クリゾチニブ耐性の前も、クリゾチニブ耐性の後にも効果的な薬剤であることが示唆された。

(2) Xenograft model



ABC-26 を用いた model の場合、クリゾチニブおよびロルラチニブいずれに対しても抗腫瘍効果が得られ、ロルラチニブのほうがより腫瘍縮小効果が得られた ($p < 0.05$)。また、ABC-20 を用いた model の場合、クリゾチニブによる腫瘍縮小効果は得られなかったものの、ロルラチニブには強い腫瘍縮小効果が得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊洋美、狩野裕久、西井和也、原尚史、二宮貴一朗、加藤有加、久保寿夫、頼冠名、市原英基、大橋圭明、堀田勝幸、田端雅弘、前田嘉信、木浦勝行
2. 発表標題 患者由来ROS1肺癌細胞株の樹立とcrizotinib耐性機序の検討
3. 学会等名 第61回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------